

DOI:10.11931/guihaia.gxzw201905018

橡胶树橡胶生物合成调控相关基因表达丰度比较

杨署光¹, 杨秀光², 史敏晶¹, 邓小敏¹, 晁金泉¹, 李言¹, 张世鑫¹, 田维敏^{1*}

(1. 中国热带农业科学院橡胶研究所、农业农村部橡胶树生物学与遗传资源利用重点实验室、省部共建国家重点实验室培育基地-海南省热带作物栽培生理学重点实验室, 海南 儋州 571737; 2. 云南省临沧市沧源佤族自治县勐角民族乡农业综合服务中心, 云南 临沧 677401)

摘要: 蛋白质是构成生命系统的基本元件之一, 是大部分生物学功能的执行者。蛋白质丰度与其生物学功能息息相关, 其丰度受基因表达过程中各环节严格精密的调控。其中, 蛋白质丰度与其相应 mRNA 丰度存在较强的相关性, 蛋白质丰度差异的 40% 可由 mRNA 丰度来解释。茉莉酸信号途径调节巴西橡胶树中的天然橡胶生物合成, 但相关基因彼此间的表达丰度差异尚待阐明。本文比较了 S/2D d/3 割胶制度下, 15 个橡胶生物合成调控相关基因 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbJAZ2*、*HbJAZ3*、*HbMYC1*、*HbMYC2*、*HbMYC3*、*HbMYC4*、*HbMYC5*、*HbGAPDH*、*HbHMGR1*、*HbSRPP*、*HbREF*、*HbHRT1*、*HbHRT2* 以及 2 个常用内参基因 *Hb18S*、*HbACTIN1* 在 10 个橡胶树种质胶乳中的表达丰度差异; 将 *HbACTIN1* 的表达丰度设定为 1, 以此为标准计算出样品中其他基因的表达丰度。结果表明, 相同个体中不同基因的转录丰度差异明显, 不同个体中相同基因集的丰度大小排序存在一定差异; 同一基因在不同个体中的转录丰度差异明显, 这 16 个基因的最大丰度分别是最低丰度的 9.43、6.04、10.02、12.29、18.82、9.22、38.46、112.83、121.36、15.34、19.09、13.54、10.05、19.80、24.83、11.82 倍, 他们的变异系数分别为百分之 73.05、55.19、69.09、67.37、66.59、53.87、83.25、122.02、166.34、59.89、70.59、75.67、74.20、68.34、84.23、78.59; 总的来说, 在群体水平上, 16 个基因的转录丰度从高到低依次为: *18S* > *SRPP* > *HMGR1* > *REF* > *MYC2/HRT1* > *COI1* > *MYC1/MYC4* > *GAPDH/JAZ1/MYC5* > *JAZ2* > *HRT2/MYC3/JAZ3*, 他们的群体平均丰度依次为 *HbACTIN1* 的 28382.26、43.64、11.39、7.16、5.47、5.10、1.07、0.75、0.74、0.45、0.42、0.33、0.12、0.06、0.06、0.04 倍。值得注意的是, 无论在个体水平还是群体水平上, *Hb18S* 的丰度毫无疑问是最大的; 在 mRNA 中, *HbSRPP* 的丰度最大, *HbJAZ1* 大于 *HbJAZ2* 和 *HbJAZ3*, *HbMYC2* 大于 *HbMYC1*、*HbMYC3*、*HbMYC4*、*HbMYC5*, *HbHRT1* 大于 *HbHRT2*。结果表明, 结构基因和功能基因的丰度高于调控基因。在基因相对表达分析中, 常对目的基因和内参基因作均一化处理, 从而掩盖了不同基因间的真实丰度差异, 因此, 在基因表达分析中, 既要关注基因的相对表达量, 也要关注基因间的丰度差异, 这有助于更全面的理解基因的功能。

关键词: 巴西橡胶树, 橡胶生物合成调控, 基因丰度, 比较

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

Comparison of the expression abundance of genes related to rubber biosynthesis regulation in *Hevea brasiliensis*

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFD1000502); 国家青年科学基金 (31800578, 31700601, 31800577); 国家天然橡胶产业技术体系分子育种岗位专项 (CARS-34-GW1) [Supported by the National Key R & D Program of China(2018YFD1000502); National Natural Science Foundation for Youth (31800578, 31700601 & 31800577); Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS-34-GW1)].

作者简介: 杨署光 (1982-), 男 (苗族), 云南省临沧凤庆人, 硕士, 助理研究员, 主要从事橡胶树分子遗传学研究, (E-mail) yangshuguang198241@163.com。

***通信作者:** 田维敏, 湖南湘西保靖人, 博士, 教授/研究员, 主要从事橡胶树发育生物学研究, (E-mail) wmtian@163.com。

YANG Shuguang¹, YANG Xiuguang², SHI Minjing¹, DENG Xiaomin¹, CHAO Jinqun¹,
LI Yan¹, ZHANG Shixin¹, TIAN Weimin^{1*}

(1. Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Rubber Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China / State Key Laboratory Incubation Base for Cultivation & Physiology of Tropical Crops, Danzhou 571737, Hainan, China; 2. Comprehensive Agricultural Service Center of Mengjiao Nationality Township, Cangyuan WA Autonomous County, Lincang 677401, Yunnan, China)

Abstract: Protein is one of the basic components of life system and the executor of most biological functions. Protein abundance is closely related to its biological function, and its abundance is strictly and precisely regulated by each link in the process of gene expression. Among them, it is known that, there is a strong correlation between protein abundance and its corresponding mRNA abundance, about 40% of the difference in protein abundance can be explained by mRNA abundance. Jasmonic acid signaling pathway regulates the biosynthesis of natural rubber in *Hevea brasiliensis*, but the difference of expression abundance among related genes is yet to be elucidated. In the present study, the expression abundance differences of 15 rubber biosynthesis regulatory genes *HbCOII*, *HbJAZ1*, *HbJAZ2*, *HbJAZ3*, *HbMYC1*, *HbMYC2*, *HbMYC3*, *HbMYC4*, *HbMYC5*, *HbGAPDH*, *HbHMGR1*, *HbSRPP*, *HbREF*, *HbHRT1*, *HbHRT2*, and 2 common internal reference genes *Hb18S*, *HbACTIN1* in 10 rubber tree germplasms latex following tapping them with S/2D d/3 tapping system were compared. The expression abundance of *HbACTIN1* in each sample is set to 1, and the expression abundance of other genes in the sample is calculated according to the standard. The results showed that the transcriptional abundance of different genes in the same individual was significantly different, and the abundance order of the same gene set was different in different individuals. The transcription abundance of the same gene was significantly different in different individuals, the maximum abundance of the 16 genes were 9.43, 6.04, 10.02, 12.29, 18.82, 9.22, 38.46, 112.83, 121.36, 15.34, 19.09, 13.54, 10.05, 19.80, 24.83, 11.82 times of the lowest abundance, respectively. Correspondingly, the coefficient of variation were 73.05, 55.19, 69.09, 67.37, 66.59, 53.87, 83.25, 122.02, 166.34, 59.89, 70.59, 75.67, 74.20, 68.34, 84.23, 78.59 percent. Overall, at the population level, the transcription abundance of the 16 genes from high to low were *18S* > *SRPP* > *HMGR1* > *REF* > *MYC2/HRT1* > *COII* > *MYC1/MYC4* > *GAPDH/JAZ1/MYC5* > *JAZ2* > *HRT2/MYC3/JAZ3*, correspondingly, the average abundance were 28382.26, 43.64, 11.39, 7.16, 5.47, 5.10, 1.07, 0.75, 0.74, 0.45, 0.42, 0.33, 0.12, 0.06, 0.06, 0.04 times than that of *HbACTIN1* respectively. It is worth noting that, the abundance of *18s* is undoubtedly the highest; and in mRNA, *SRPP* is the largest, *JAZ1* is greater than that of *JAZ2* and *JAZ3*, *MYC2* is greater than that of *MYC1*, *MYC3*, *MYC4* and *MYC5*, *HRT1* is greater than *HRT2* at both the individual and population levels. The results showed that, the abundance of structural genes and functional genes is higher than that of regulatory genes. In the analysis of gene relative expression, the target gene and the internal reference gene are usually homogenized, thus masking the real abundance difference between different genes, therefore, in the gene expression analysis, we should pay attention not only to the relative expression of genes, but also to the abundance difference between genes, which is helpful to understanding the function of genes in a more comprehensive way.

Key words: *Hevea brasiliensis*, rubber biosynthesis regulation, gene abundance, comparison

蛋白质是构成生命系统的基本元件之一，是大部分生物学功能的执行者。蛋白质丰度与其生物学功能息息相关，其丰度受基因表达过程中各环节严格精密的调控。其中，mRNA丰度可以解释蛋白质丰度差异的主要部分。

蛋白质丰度与其相应的 mRNA 丰度有一定的相关性。Lu 等 (Lu et al., 2007) 对大肠杆菌和酵母细胞蛋白质组进行定量时发现，细胞内蛋白质丰度与相应的 mRNA 丰度具有较高相关性 (大肠杆菌 $R^2=0.47$ ，酵母 $R^2=0.73$)。Laurent 等 (Laurent et al., 2010) 研究了 7 个代表物种的蛋白质和 mRNA 丰度，发现蛋白质丰度与其 mRNA 丰度存在 0.36~0.70 的正相关性。Schwanhäusser 等 (Schwanhauser et al., 2011) 在研究小鼠 NIH3T3 细胞内定量蛋白质组时发现蛋白质丰度与相应 mRNA 丰度存在较强的相关性 ($R^2=0.41$)。Marquerat 等 (Marquerat et al., 2012) 对裂殖酵母的增殖细胞和静止细胞进行定量蛋白质组研究，发现细胞内蛋白质丰度与其相应 mRNA 丰度具有一定相关性 ($R^2=0.55$)。综上所述，在细胞群体水平上，蛋白质丰度与其相应 mRNA 丰度存在较强的相关性，mRNA 丰度可以解释蛋白质丰度差异的主要部分 (约 40% 以上)。

茉莉酸信号途径调控巴西橡胶树的橡胶生物合成 (Deng et al., 2018)，橡胶产量与茉莉酸信号途径关键环节基因和橡胶生物合成酶基因的表达正相关 (杨署光等, 2019a; 杨署光等, 2019b)。目前的 qPCR 基因表达分析主要关注基因间、样本组织间或处理条件下基因的相对表达量，很少关注功能相关基因的丰度差异。在基因相对表达分析中，常对目的基因和内参基因作均一化处理，从而掩盖了不同基因间的真实丰度差异，因此，在基因表达分析中，既要关注基因的相对表达量，也要关注基因间的丰度差异，这有助于更全面的理解基因的功能。该研究将每个样品中 *HbACTIN1* 的基因丰度设为 1，分析 15 个橡胶生物合成调控相关基因以及常用作内参基因的 *18S* 基因的丰度差异，以期能更全面的理解这些相关基因在橡胶生物合成调控中的地位和作用。

1 材料与方

1.1 材料

实验材料（表 1）和实验设计与先前的报道相同，先前报道了 9 个茉莉酸信号途径关键环节基因 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbJAZ2*、*HbJAZ3*、*HbMYC1*、*HbMYC2*、*HbMYC3*、*HbMYC4*、*HbMYC5* 和 6 个橡胶生物合成酶基因 *HbHRT2*、*HbSRPP*、*HbREF*、*HbHMGR1*、*HbHRT1*、*HbGAPDH* 在这 10 个橡胶树种质中的相对表达差异，以及这些基因间的表达相关性（杨曙光等，2019c）；该研究进一步利用这些基因的 qPCR 结果，分析这些基因间的丰度差异。

表 1 实验材料

Table 1 Plant material

种质 Germplasm	生物学重复 Biological repetition	样品 Samples
PR107	3	Sample: 1, 2, 3
RRIM600	3	Sample: 4, 5, 6
Re ken 628	3	Sample: 7, 8, 9
Re ken 525	3	Sample: 10, 11, 12
Re ken 523	3	Sample: 13, 14, 15
RO/CM/10 44/160	3	Sample: 16, 17, 18
MT/IT/13 29/8	3	Sample: 19, 20, 21
RO/C/8 24/104	2	Sample: 22, 23
RO/I/103 107	4	Sample: 24, 25, 26, 27
RO/CM/10 44/454	3	Sample: 28, 29, 30

1.2 方法

根据 GenBank（JF775488）的全长 cDNA 序列设计 *HbACTIN1* 的 qPCR 引物，F：GTTCTACAAGTGCTTTGATGGCGA，R：GCAGCCATAACATGAAACGCAATAG；引物的扩增效率为 92.7%，qPCR 产物为 190 bp。

根据“ $A=2^{\Delta Cq}=2^{Actin1\ Cq-Gene\ Cq}$ ”计算每个样品中各基因的丰度（Abundance，A），即将每个样品中 *HbACTIN1* 的丰度均设为 1（ $A=2^{\Delta Cq}=2^{Actin1\ Cq-Actin1\ Cq}=2^0=1$ ）。

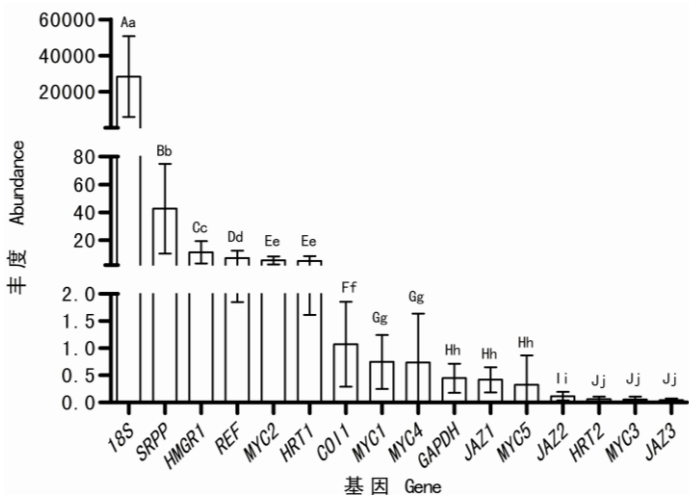
1.3 数据处理

用 GraphPad Prism 5 作图；用 SPSS 软件的 Duncan 检验进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 基因转录的平均丰度

总的来说，在群体水平上，16 个基因的转录丰度差异很大（图 1）。从高到低排序为 *18S* > *SRPP* > *HMGR1* > *REF* > *MYC2/HRT1* > *COI1* > *MYC1/MYC4* > *GAPDH/JAZ1/MYC5* > *JAZ2* > *HRT2/MYC3/JAZ3*。其中 *MYC2/HRT1*、*MYC1/MYC4*、*GAPDH/JAZ1/MYC5*、*HRT2/MYC3/JAZ3* 之间差异不显著（ $P<0.05$ ）。*SRPP* 基因的丰度极显著（ $P<0.01$ ）高于 *REF*；*HRT1* 基因的丰度极显著（ $P<0.01$ ）高于 *HRT2*；5 各 *MYCs* 家族成员中，*MYC2* > *MYC1/MYC4* > *MYC5* > *MYC3*（ $P<0.01$ ）；3 各 *JAZs* 家族成员中，*JAZ1* > *JAZ2* > *JAZ3*（ $P<0.01$ ）。



注：平均丰度为各基因在 30 个样品中的平均数±标准差。从左到右，基因丰度从高到低排列。不同大写字母表示组间差异极显著（ $P<0.01$ ），不同小写字母表示组间差异显著（ $P<0.05$ ）。下同。

Note: Data are $\bar{x} \pm s$ of the transcriptional abundance of each gene in 30 samples(or sample set). From left to right, gene abundance is arranged from high to low. The different capital letters indicate significance at $P<0.01$, the different small letters indicate significance at $P<0.05$. The same below.

图 1 30 个样品基因转录的平均丰度

Fig. 1 Average abundance of gene transcription in 30 samples

2.2 相同样品中不同基因的表达丰度

在个体水平上，相同个体中不同基因的转录丰度差异明显（图 2-图 6）：如样品 23 和 28 中，16 个基因的丰度彼此间差异均到达 $P<0.01$ 或 $P<0.05$ 的显著水平。不同样品中相同基因集的丰度大小排序存在一定差异（图 2-图 6，表 1）：所有样品中，排名一致的是 18S 和 SRPP，分别为第 1 和第 2；排名第 3 的主要是 HMGR1（67%）；排名第 4 的主要是 REF（53%）、排名第 5 的主要是 MYC2（60%）；排名第 6 的主要是 HRT1（57%）；排名第 7、8 的主要是 COI1（57%，40%）；排名第 9 的主要是 MYC4（30%）和 GAPDH（30%）；排名第 10、11 的主要是 JAZ1（47%，30%）；排名第 12 的主要是 MYC4（23%）、MYC5（17%）、GAPDH（17%）、JAZ2（17%）、MYC3（17%）；排名第 13 的主要是 JAZ2（50%）；排名第 14、15、16 的主要是 JAZ3（27%，30%，37%）；排名第 16 的主要是 JAZ3（37%）和 MYC3（33%）。同一基因在不同样品中的丰度排序范围不一样，如 MYC2 在 30 个样品中有 3 种位次，而 MYC5 则多达 9 种位次。SRPP 和 REF 是构成橡胶树橡胶粒子的 2 种主要蛋白，该研究的所有样品中，SRPP 基因的丰度均极显著（ $P<0.01$ ）高于 REF。HRT1 和 HRT2 是橡胶树橡胶转移酶家族的 2 个成员，该研究的所有样品中，HRT1 基因的丰度均极显著（ $P<0.01$ ）高于 HRT2。该研究的所有样品中，MYCs 家族的 5 个成员中，MYC2 的丰度最高，MYC2 基因的丰度均极显著（ $P<0.01$ ）高于 MYC1,3,4,5。该研究的所有样品中，JAZs 家族的 3 个成员中，JAZ1 的丰度最高，JAZ1 基因的丰度均极显著（ $P<0.01$ ）高于 JAZ1,2；绝大部分样品（25 个，83.3%）的 JAZ2 丰度大于 JAZ3，仅有 5 个样品（7，8，9，15，21；16.7%）的 JAZ3 丰度大于（7，8，9；10%）或相当于（15，21；6.7%）JAZ2。

表 1 样品中基因丰度的差异分布
Table 1 Differential distribution of gene abundance in samples

基因	样品数	丰度排序 Abundance order															
Gene	Sample number	1st	2ed	3rd	4th	5th	6 th	7 th	8 th	9 th	10 th	11 th	12 th	13 th	14 th	15 th	16 th
18S	数目 Number	30															
	百分数 Percent(%)	100															
SRPP	数目 Number		30														
	百分数 Percent(%)		100														
HMGR1	数目 Number			20	5	5											
	百分数 Percent(%)			67	17	17											
HRT1	数目 Number			3	3	6	17	1									
	百分数 Percent(%)			10	10	20	57	3									
REF	数目 Number			7	16	1	6										
	百分数 Percent(%)			23	53	3	20										
MYC2	数目 Number				6	18	6										
	百分数 Percent(%)				20	60	20										
MYC1	数目 Number						1	9	8	5	4	2	1				
	百分数 Percent(%)						3	30	27	17	13	7	3				
COI1	数目 Number							16	12	2							
	百分数 Percent(%)							57	40	7							
MYC4	数目 Number							2	6	9	3	3	7				
	百分数 Percent(%)							7	20	30	10	10	23				
MYC5	数目 Number							2		2	1	6	5	3	3	5	3
	百分数 Percent(%)							7		7	3	20	17	10	10	17	10
JAZ1	数目 Number								2	3	14	9	2				
	百分数 Percent(%)								7	10	47	30	7				
GAPDH	数目 Number								2	9	8	5	5	1			
	百分数 Percent(%)								7	30	27	17	17	3			
JAZ2	数目 Number											3	5	15	2	3	2
	百分数 Percent(%)											10	17	50	7	10	7
JAZ3	数目 Number											2			8	9	11
	百分数 Percent(%)											7			27	30	37
MYC3	数目 Number												5	6	3	6	10
	百分数 Percent(%)												17	20	10	20	33
HRT2	数目 Number													5	14	7	4
	百分数 Percent(%)													17	47	23	13

chinaXiv:201908.00105v1

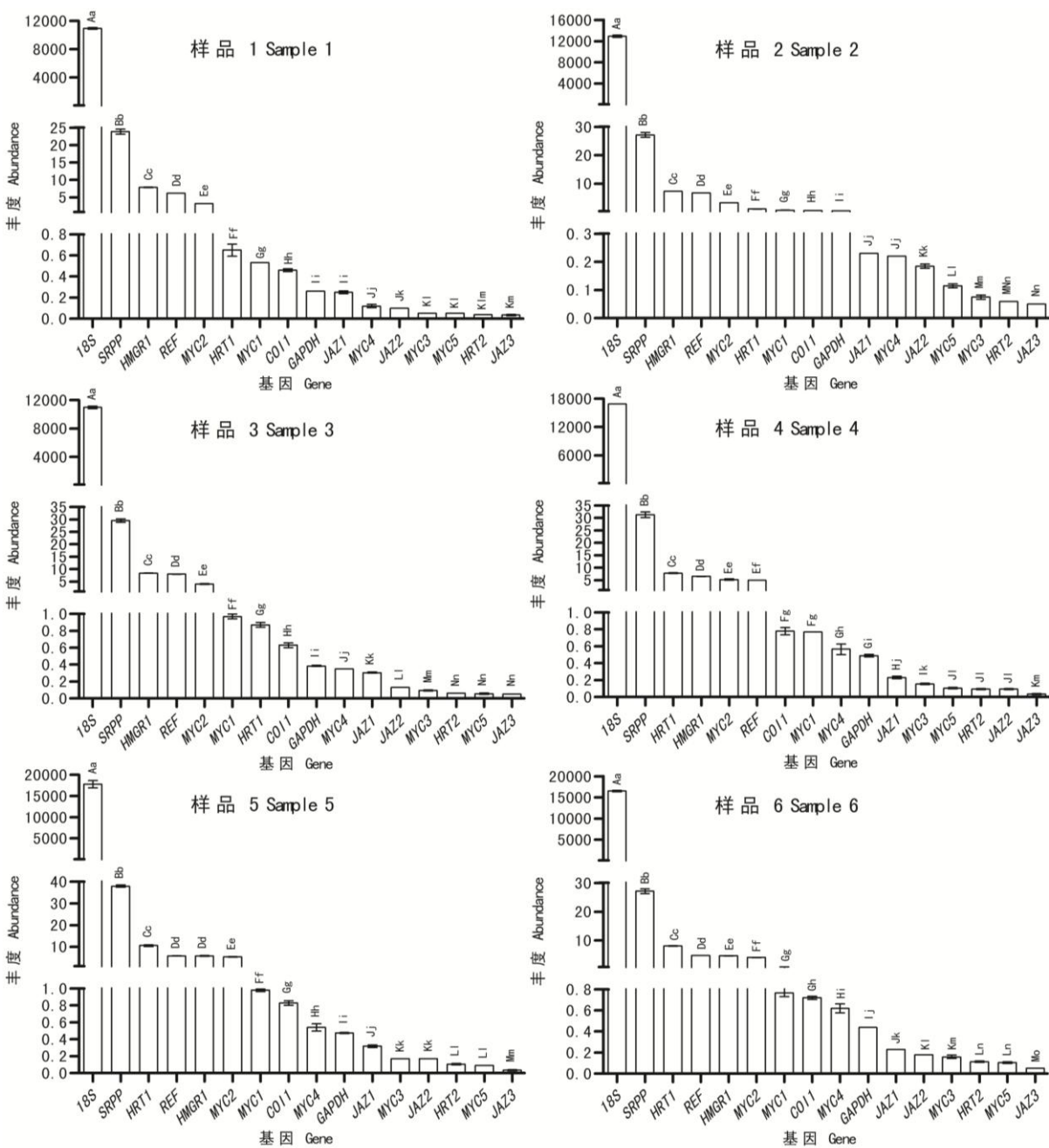


图 2 相同样品中不同基因的表达丰度

Fig. 2 Transcriptional abundance of different genes in the same sample

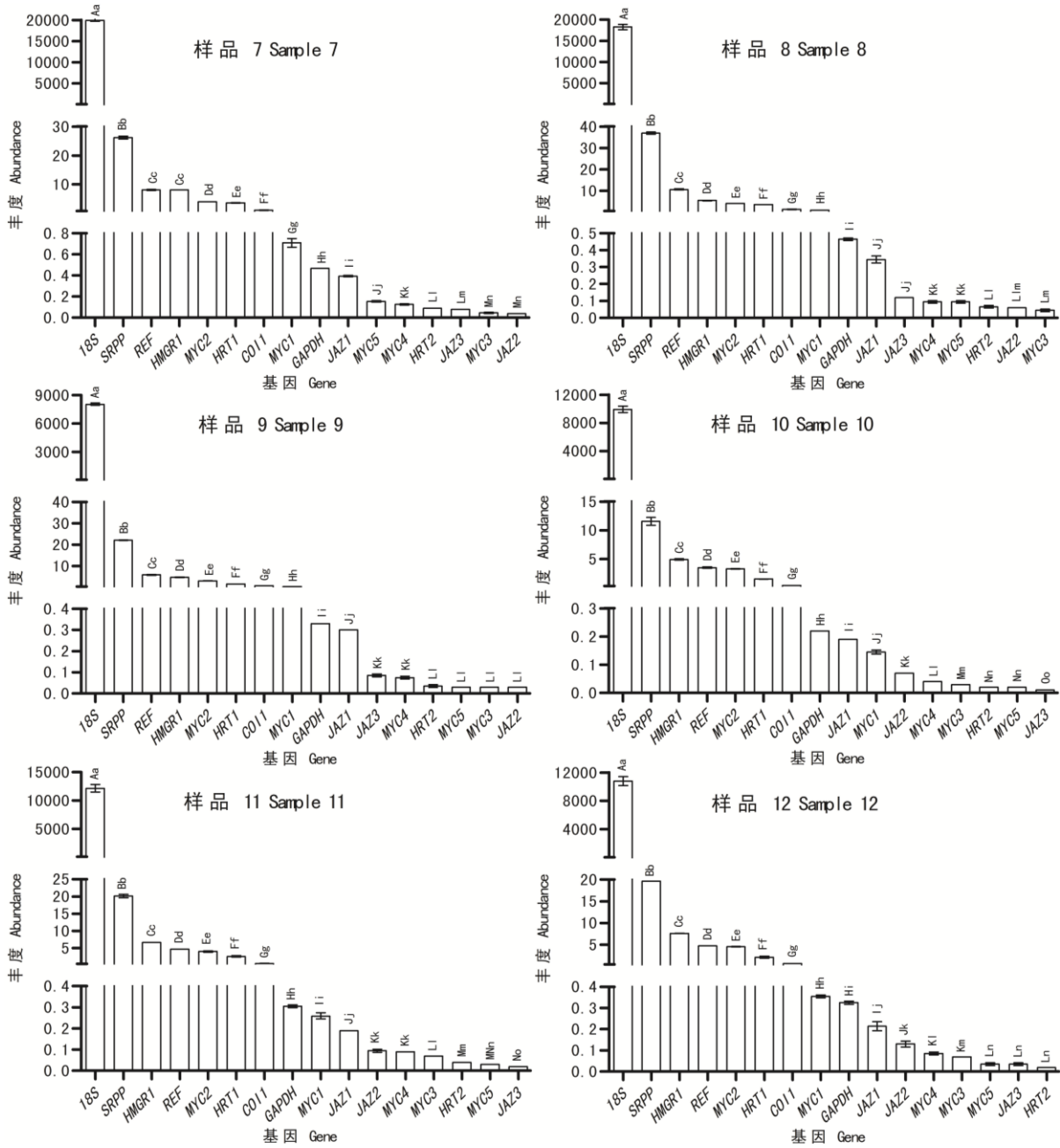


图 3 相同样品中不同基因的表达丰度

Fig. 3 Transcriptional abundance of different genes in the same sample

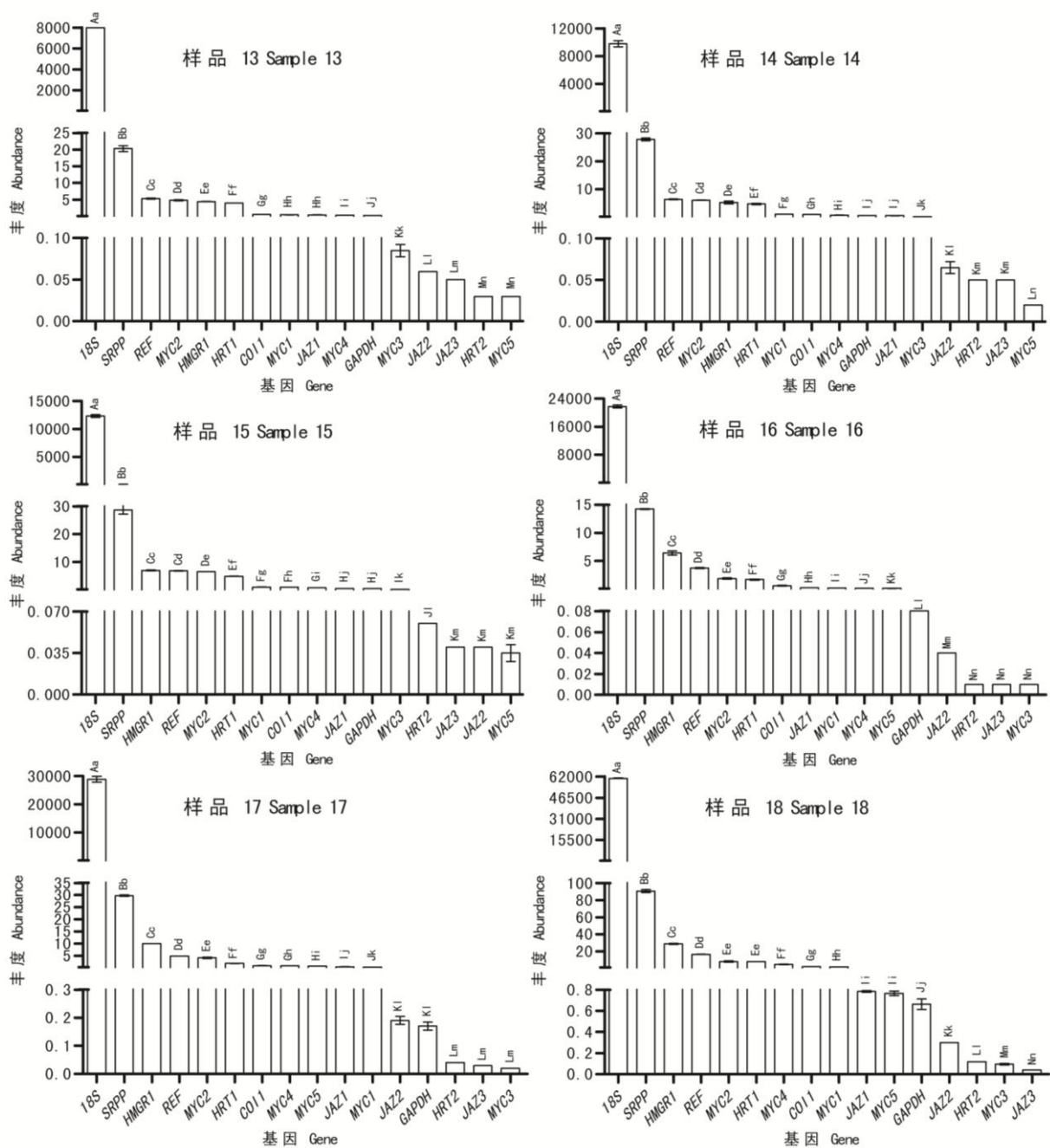


图 4 相同样品中不同基因的表达丰度

Fig. 4 Transcriptional abundance of different genes in the same sample

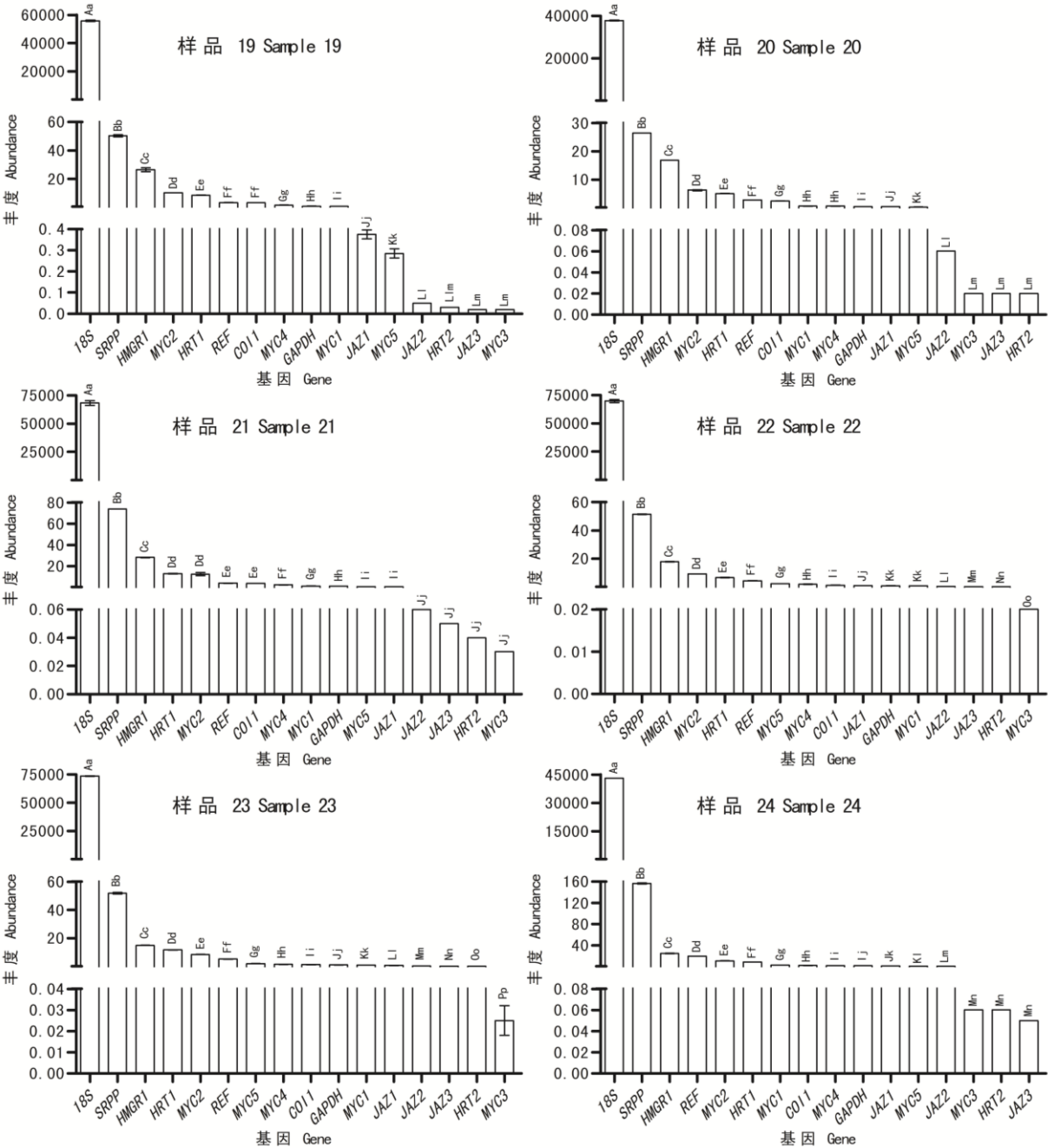


图 5 相同样品中不同基因的表达丰度

Fig. 5 Transcriptional abundance of different genes in the same sample

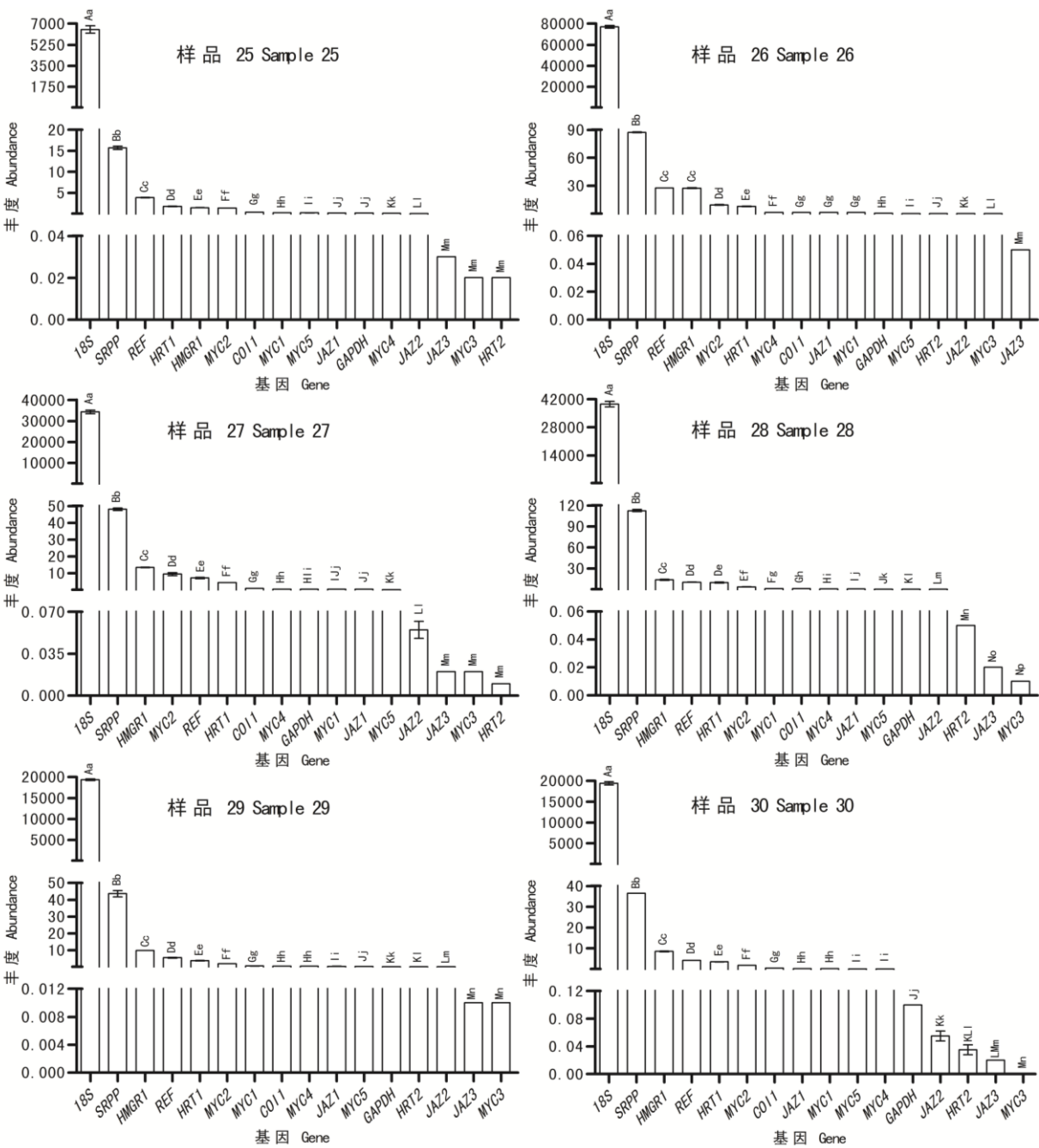


图 6 相同样品中不同基因的表达丰度

Fig. 6 Transcriptional abundance of different genes in the same sample

2.3 相同基因在不同样品中的表达丰度

在个体水平上,同一基因在不同个体中的转录丰度差异明显,变异系数 53.87~166.34% (图 7-图 10)。*COII* 在 3.9×10^{-1} – 3.7×10^0 之间,变异系数 73.05%,个体间差异可达 1 个数量级;*JAZ1* 在 1.9×10^{-1} – 1.15×10^0 之间,变异系数 55.19%,个体间差异可达 1 个数量级;*JAZ2* 在 3.0×10^{-2} – 3.0×10^{-1} 之间,变异系数 69.09%,个体间差异可达 1 个数量级;*JAZ3* 在 1.0×10^{-2} – 1.3×10^{-1} 之间,变异系数 67.37%,个体间差异可达 1 个数量级;*MYC1* 在 1.5×10^{-1} – 2.8×10^0 之间,变异系数 66.59%,个体间差异可达 1 个数量级;*MYC2* 在 1.4×10^0 – 1.24×10^1 之间,变异系数 53.87%,个体间差异可达 1 个数量级;*MYC3* 在 4.5×10^{-3} – 1.7×10^{-1} 之间,变异系数 83.25%,个体间差异可达 2 个数量级;*MYC4* 在 4.0×10^{-2} – 4.4×10^0 之间,变异系数 122.02%,个体间差异可达 2 个数量级;*MYC5* 在 2.0×10^{-2} – 4.4×10^0 之间,变异系数 166.34%,个体间差异可达 2 个数量级;*GAPDH* 在 8.0×10^{-2} – 1.2×10^0 之间,变异系数 59.89%,个体间差异可达 2 个数量级;*HMGR1* 在 1.5×10^0 – 2.9×10^1 之间,变异系数 70.59%,个体间差异可达 1 个数量级;*SRPP* 在 1.2×10^1 – 1.6×10^2 之间,变异系数 75.67%,个体间差异可达 1 个数量级;*REF* 在 2.8×10^0 – 2.8×10^1 之间,变异系数 74.20%,个体间差异可达 1 个数量级;*HRT1* 在 6.5×10^{-1} – 1.3×10^1 之间,变异系数 68.34%,个体间差异可达 2 个数量级;*HRT2* 在 1.1×10^{-2} – 2.8×10^{-1} 之间,变异系数 84.23%,个体间差异可达 1 个数量级;*18S* 在 6.5×10^3 – 7.7×10^4 之间,变异系数 78.59%,个体间差异可达 1 个数量级。

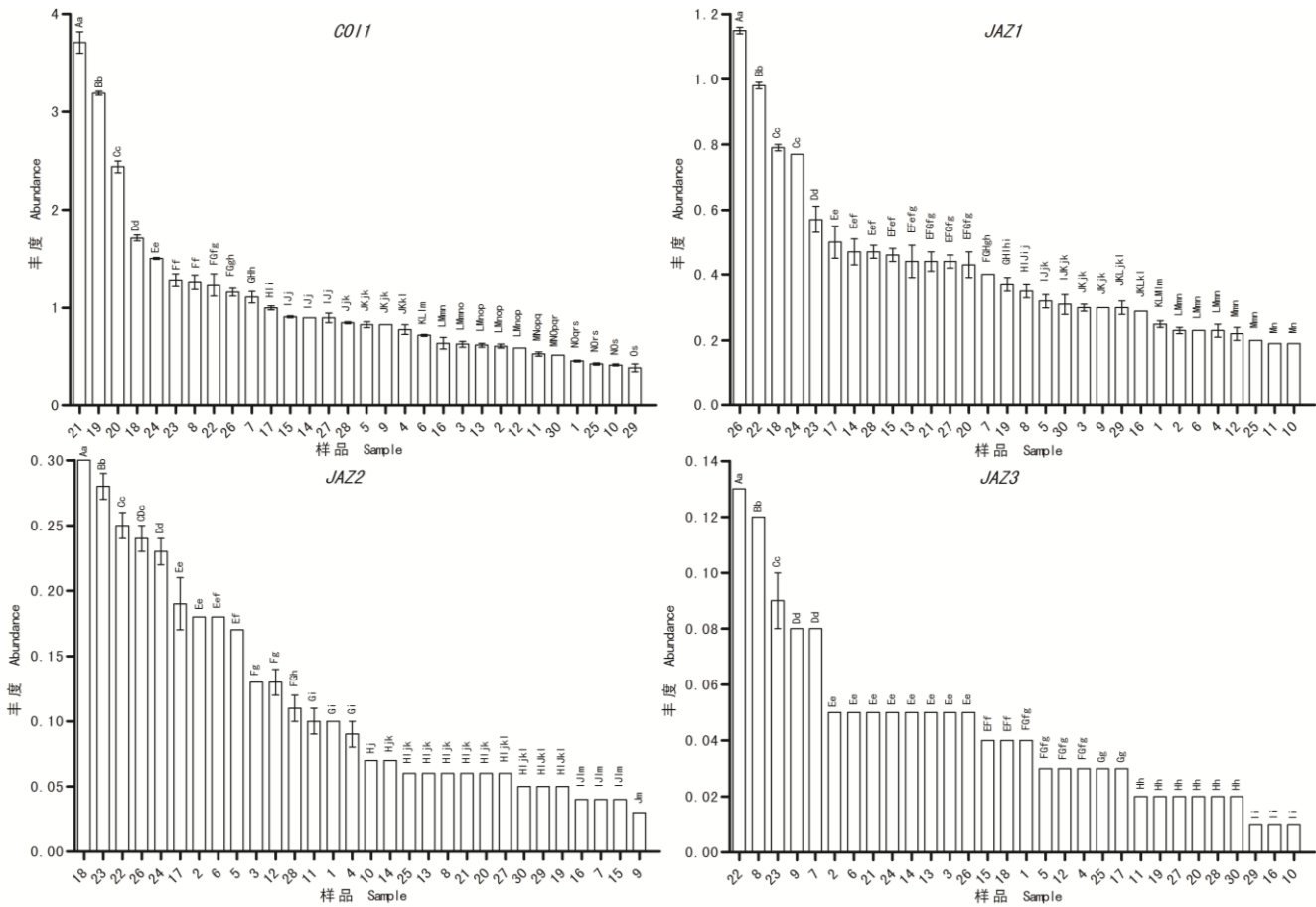


图 7 相同基因在不同样品中的转录丰度

Fig. 7 Transcriptional abundance of same gene in the different samples

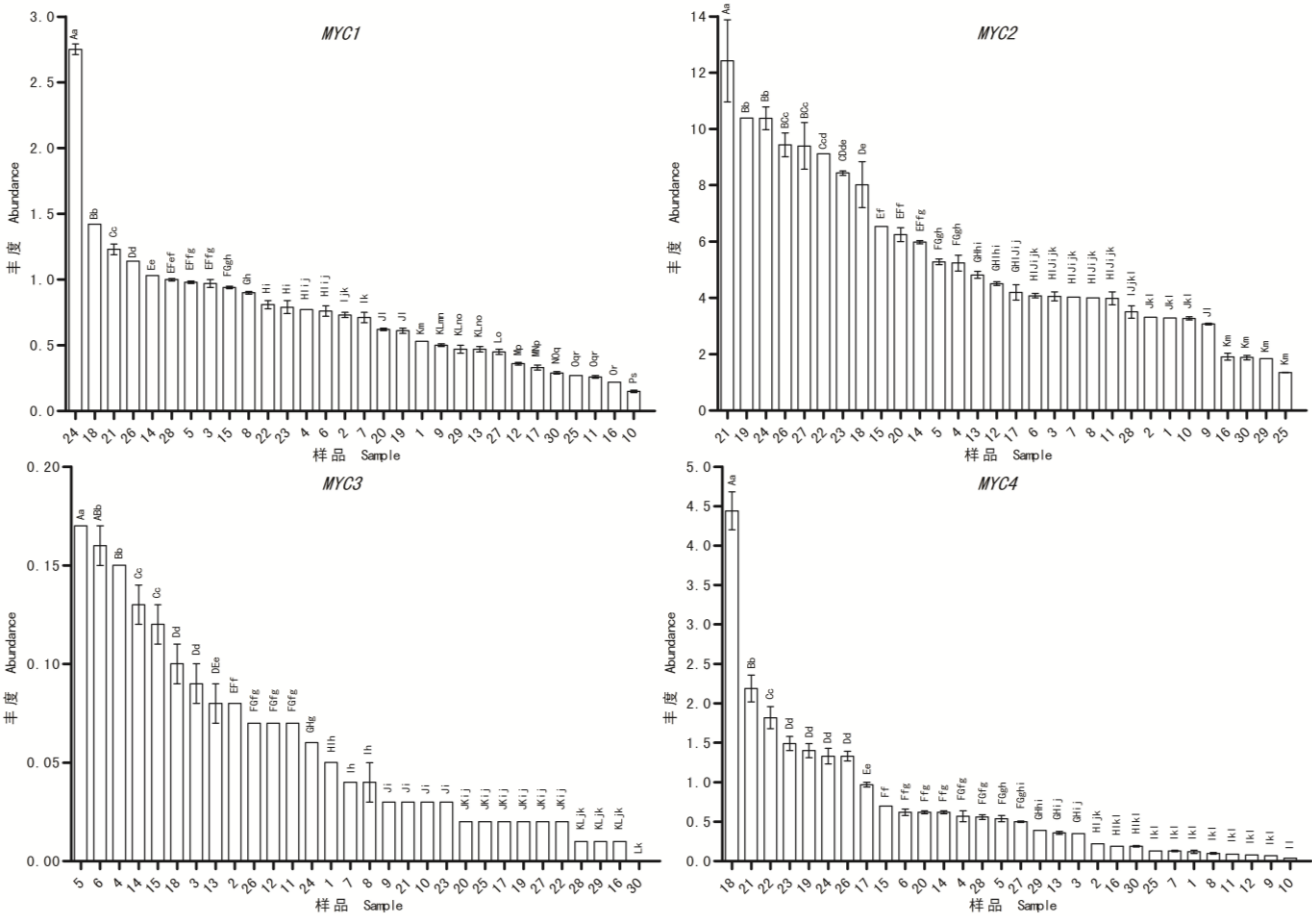


图 8 相同基因在不同样品中的转录丰度

Fig. 8 Transcriptional abundance of same gene in the different samples

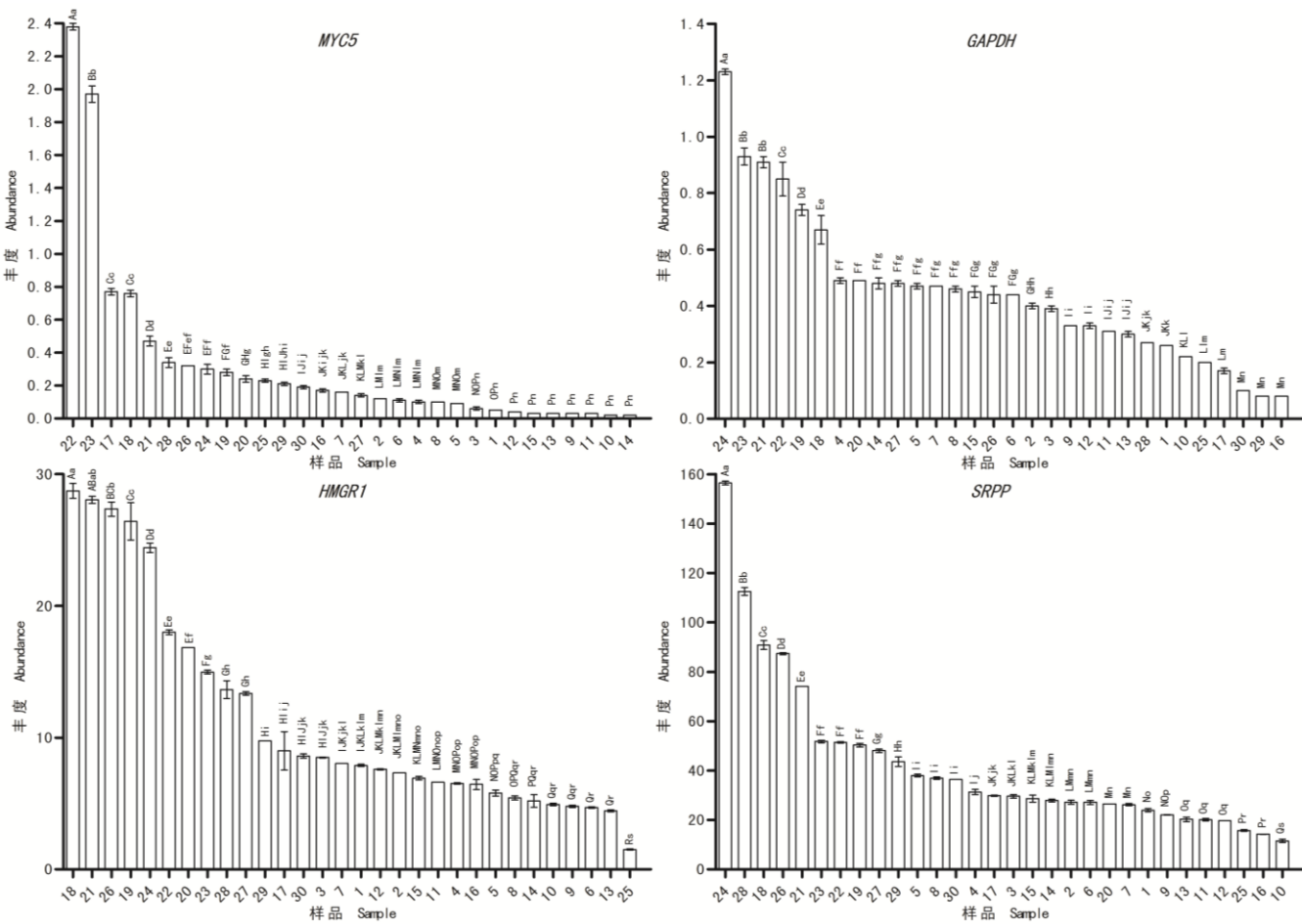


图 9 相同基因在不同样品中的转录丰度

Fig. 9 Transcriptional abundance of same gene in the different samples

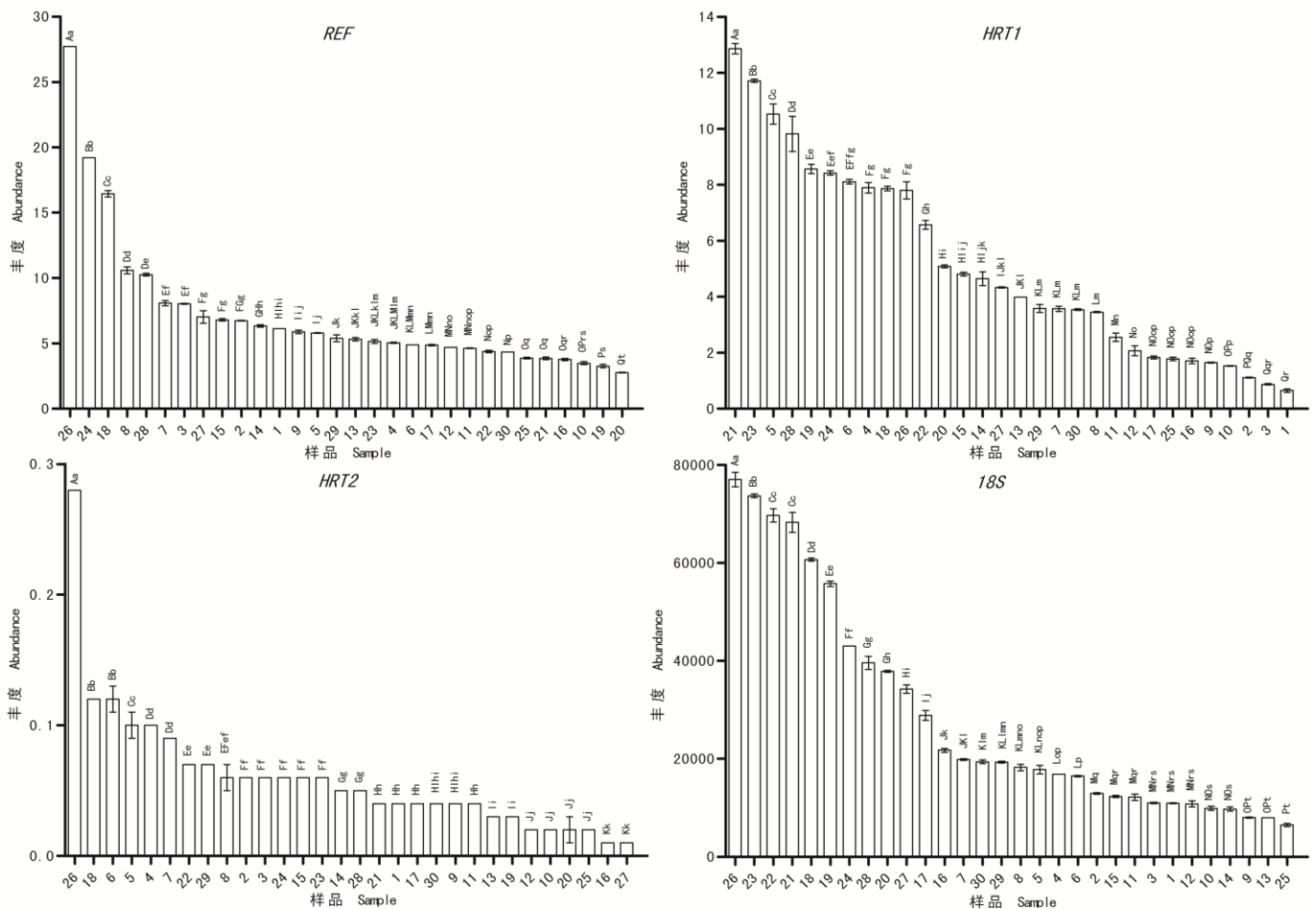


图 10 相同基因在不同样品中的转录丰度

Fig. 10 Transcriptional abundance of same gene in the different samples

3 讨论与结论

核糖体 (ribosome) 是最古老、精细复杂的细胞器, 其结构和组成从原核到真核高度保守 (靳聪聪等, 2018)。核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 是细胞中最为丰富的 RNA, 在真核细胞中约有 50% 的 RNA 是 rRNA (苏志宁和洪励上, 2009); rRNA 是核糖体的主要结构组分之一, 占原核生物核糖体相对分子量的 64.78%, 占真核生物核糖体相对分子量的 58.72% (刘望夷, 2009)。该研究中, 18S 的基因丰度最高, 与结构蛋白相对调控蛋白丰度较高 (王曦光等, 2017; Sato et al., 1999; Giegé & Brennicke, 1999; Lin et al., 1999), 蛋白质表达水平较高的基因倾向于进化保守 (Drummond et al., 2005; Drummond & Wilke, 2008), 主要执行细胞核心功能 (Beck et al., 2011) 的一般结果一致。

SRPP、HMGR1、REF、HRT1 是橡胶生物合成的关键酶, SRPP 和 REF 也是橡胶粒子的 2 个主要构成蛋白 (Dennis & Light, 1989; Oh et al., 1999; Berthelot et al., 2014); COI1、JAZ1、JAZ2、JAZ3、MYC1、MYC2、MYC3、MYC4、MYC5 是茉莉酸信号途径的关键蛋白, 参与橡胶生物合成调控 (Deng et al., 2018)。该研究表明, SRPP、HMGR1、REF、HRT1 的基因丰度显著高于 JAZs 和 MYCs 家族成员, 与功能蛋白/结构蛋白的丰度普遍高于调控蛋白 (Ishihama et al., 2008; Beck et al., 2011; Nagaraj et al., 2011) 的结果相符。HMGR1 位于多个代谢途径的上游, 细胞质中的 GAPDH 是参与糖酵解反应的关键酶, 其基因丰度高于 JAZ2、JAZ3 和 MYC3, 与功能上参与基础“物质流”的蛋白质丰度高于调控精细“信息流”的

蛋白质丰度 (Zhong et al., 2012) 的结果相似。

体外分析表明, HRT2 而非 HRT1 与橡胶合成有关 (Asawatreratanakul et al., 2003), 这与不同产量的橡胶树种质中 *HRT1* 的基因表达比 *HRT2* 保守 (杨署光等, 2019a) 的结果一致; 然而, *HRT1* 的基因丰度显著高于 *HRT2*, 表明 HRT1 可能起着一种更为保守的功能。

基因组序列分析草图表明, 橡胶树中分别存在 10 个 REF 和 12 个 SRPP 基因成员 (Rahman et al., 2013), 这些基因在基因组中的定位相同 (Oh et al., 1999; Sookmark, 1999), 进化分析表明 REF 和 SRPP 是同源蛋白, 起源于共同的祖先基因, 同属于一个大的植物胁迫相关蛋白家族 (Karine et al., 2014)。REF 和 SRPP 的 mRNA 在乳管细胞中高表达 (Ko et al., 2003; Chotigeat et al., 2010; Han et al., 2000; Chow et al., 2007; Tan et al., 2014), 该研究获得类似结果; 在胶乳中, REFs 家族的转录丰度最高 (9.44%), 其次是 SRPPs 家族 (1.21%) (Chotigeat et al., 2010), 在个体成员水平上, 该研究中的 SRPP 的丰度大于 REF。

MYC1,2,3 在胶乳中特异表达, 而 *MYC4,5* 主要在花中表达 (赵悦, 2011), 这 and 前者与橡胶产量的相关性高于后者 (杨署光等, 2019b) 的结果一致; 然而, 胶乳中 *MYC4,5* 的丰度还高于 *MYC3*, *MYC4* 的丰度与 *MYC1* 相当, 说明 *MYC4,5* 也在胶乳代谢过程中起作用。因此, 在基因表达分析中, 既要关注基因的相对表达量, 也要关注基因间的丰度差异, 这有助于更全面的理解基因的功能。

该研究结果表明, 不同功能/环节的橡胶生物合成调控相关基因间的转录丰度差异显著, 并且这种差异在不同橡胶树种质间基本一致; 无论在种质内还是种质间, 这些基因在个体内/间的转录水平均处于一定的变动状态, 相对而言, 调控基因的变异程度大于功能基因和结构基因。本研究获得的是割胶后 3d 的基因转录丰度结果, 由于割胶显著促进橡胶树的橡胶生物合成, 并且割胶包含排胶和机械伤害 2 种效应, 因此, 研究伤害和排胶对相关基因转录丰度的影响以及系统的追踪割胶后这些基因转录丰度的动态变化过程, 有助于完善橡胶生物合成调控的理论机制。

参考文献:

- ASAWATRERATANAKUL K, ZHANG YW, WITITSUWANNAKUL D, et al., 2003. Molecular cloning, expression and characterization of cDNA encoding cis-prenyltransferases from *Hevea brasiliensis* - A key factor participating in natural rubber biosynthesis[J]. Eur J Biochem, 270(23): 4671-4680.
- BECK M, SCHMIDT A, MALMSTROEM J, et al., 2011. The quantitative proteome of a human cell line[J]. Mol Syst Biol, 7: 549. doi: 10.1038/msb.2011.82.
- BERTHELOT K, LECOMTE S, ESTEVEZ Y, et al., 2014. Homologous *Hevea brasiliensis* REF (Hevb1) and SRPP (Hevb3) present different autoassembling[J]. Biochim Biophys Acta, 1844(2): 473-485.
- CHOTIGEAT W, DUANGCHU S, PHONGDARA A, 2010. cDNA library from the latex of *Hevea brasiliensis*[J], Songklanakarin J Sci Technol, 32(6): 555-559.
- CHOW KS, WAN KL, ISA MN, et al., 2007. Insights into rubber biosynthesis from transcriptome analysis of *Hevea brasiliensis* latex[J]. J Exp Bot, 58(10): 2429-2440.
- DENG XM, GUO D, YANG SG, et al., 2018. Jasmonate signalling in regulation of rubber biosynthesis in laticifer cells of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. J Exp Bot, 69(15): 3559-3571.
- DENNIS MS & LIGHT DR, 1989. Rubber elongation factor from *Hevea brasiliensis*. Identification, characterization, and role in rubber biosynthesis[J]. J Biol Chem, 264(31): 18608-18617.
- DRUMMOND DA, BLOOM JD, ADAMI C, et al., 2005. Why highly expressed proteins evolve slowly[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 102(40): 14338-14343.
- DRUMMOND DA & WILKE CO, 2008. Mistranslation-induced protein misfolding as a dominant constraint on coding-sequence evolution[J]. Cell, 134(2): 341-352.

- GIEGÉ P & BRENNICKE A, 1999. RNA editing in *Arabidopsis mitochondria* effects 441 C to U changes in ORFs[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 96(26): 15324-15329.
- HAN KH, SHIN DH, YANG J, et al., 2000. Genes expressed in the latex of *Hevea brasiliensis*[J]. Tree Physiol, 20(8): 503-510.
- ISHIHAMA Y, SCHMIDT T, RAPPILBER J, et al., 2008. Protein abundance profiling of the *Escherichia coli* cytosol[J]. BMC Genomics, 9: 102. doi: 10.1186/1471-2164-9-102.
- JIN CC, HOU MY, PAN YY, 2018. Research progress of ribosomal protein function in *Arabidopsis thaliana*[J]. J Plant Physiol, 2018, 54(2): 203-212.[靳聪聪, 侯名语, 潘延云, 2018. 拟南芥核糖体蛋白生物学功能研究进展[J]. 植物生理学报, 2018, 54(2): 203-212.]
- KARINE B, SOPHIE L, YANNICK E, et al., 2014. *Hevea brasiliensis* REF (Hev b 1) and SRPP (Hev b 3): An overview on rubber particle proteins[J]. Biochimie, 106: 1-9. doi: 10.1016/j.biochi.2014.07.002. Epub 2014 Jul 11.
- KO JH, CHOW KS, HAN KH, 2003. Transcriptome analysis reveals novel features of the molecular events occurring in the laticifers of *Hevea brasiliensis*(para rubber tree)[J]. Plant Mol Biol, 53(4): 479-492.
- LAURENT JM, VOGEL C, KWON T, et al., 2010. Protein abundances are more conserved than mRNA abundances across diverse taxa[J]. Proteomics, 10(23): 4209-4212
- LIN X, KAUL S, ROUNSLEY S, et al., 1999. Sequence and analysis of chromosome 2 of the plant *Arabidopsis thaliana*[J]. Nature, 402(6763): 761-768.
- LIU WY, 2009. Structure and function of the bacterial ribosome[J]. Chin Bull Life Sci, 21(6): 771-780. [刘望夷, 2009. 细菌核糖体的结构和功能[J]. 生命科学, 21(6): 771-780.]
- LU P, VOGEL C, WANG R, et al., 2007. Absolute protein expression profiling estimates the relative contributions of transcriptional and translational regulation[J]. Nat Biotechnol, 25(1): 117-124.
- MARQUERAT S, SCHMIDT A, CODLIN S, et al., 2012. Quantitative analysis of fission yeast transcriptomes and proteomes in proliferating and quiescent cells[J]. Cell, 151(3): 671-683.
- NAGARAJ N, WISNIEWSKI J R, GEIGER T, et al., 2011. Deep proteome and transcriptome mapping of a human cancer cell line[J]. Mol Syst Biol, 7: 548. doi: 10.1038/msb.2011.81.
- OH SK, KANG H, SHIN DH, et al., 1999. Isolation, characterization, and functional analysis of a novel cDNA clone encoding a small rubber particle protein from *Hevea brasiliensis*[J]. J Biol Chem, 274(24): 17132-17138.
- RAHMAN AY, USHARRAJ AO, MISRA BB, et al., 2013. Draft genome sequence of the rubber tree *Hevea brasiliensis*[J]. BMC Genomics, 14: 75. doi: 10.1186/1471-2164-14-75.
- SATO S, NAKAMURA Y, KANEKO T, et al., 1999. Complete structure of the chloroplast genome of *Arabidopsis thaliana*[J]. DNA Res, 6(5): 283-290.
- SCHWANHAUSSER B, BUSSE D, LI N, et al., 2011. Global quantification of mammalian gene expression control[J]. Nature, 473(7347): 337-342.
- SOOKMARK U, PUJADE-RENAUD V, CRESTIN H, et al., 2002. Characterization of polypeptides accumulated in the latex cytosol of rubber trees affected by the tapping panel dryness syndrome[J]. Plant Cell Physiol, 43(11): 1323-1333.
- SU ZN & HONG LS, 2009. The Transcription and regulation of ribosomal RNA[J]. J Langfang Teachers College(Natural Science Edition), 9(4): 74-77. [苏志宁, 洪励上, 2009. 核糖体 RNA 的转录与调控[J]. 廊坊师范学院学报(自然科学版), 9(4): 74-77.]
- TAN D, SUN X, ZHANG J, 2014. Age-dependent and jasmonic acid-induced laticifer cell differentiation in anther callus cultures of rubber tree[J]. Planta, 240(2): 337-344.
- TIAN WM, ZHANG H, YANG SG, et al., 2013. Molecular and biochemical characterization of a cyanogenic β -glucosidase in the inner bark tissues of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. J Plant Physiol,

170(8): 723-730.

WANG XG, WANG J, ZHANG L, 2017. *A. thaliana* protein abundance analysis corresponding with elongation efficiency[J]. China Biotechnol, 2017, 37(2): 40-47. [王曦光, 王娟, 张琳, 2017. 拟南芥蛋白质丰度与基因翻译效率关联分析[J]. 中国生物工程杂志, 2017, 37(2): 40-47.]

YANG SG, CHEN YY, LI Y, et al., 2019a. Correlation between the expression level of rubber biosynthesis genes and rubber yield[J]. Chin J Trop Crop, 40(3): 475-482.[杨署光, 陈月异, 李言等, 2019a. 橡胶树橡胶生物合成相关基因表达与橡胶产量的相关性[J]. 热带作物学报, 40(3): 475-482.]

YANG SG, ZHAO Y, CHEN YY, et al., 2019b. Correlation between the expression level of genes related to Jasmonate signaling and rubber yield[J]. Guihaia, 39(5): 641-649.[杨署光, 赵悦, 陈月异, 等, 2019b. 橡胶树茉莉酸信号途径相关基因表达与橡胶产量的相关性[J]. 广西植物, 39(5): 641-649.]

ZHAO Y, 2011. Involvement of jasmonate signaling pathway in regulating rubber biosynthesis in laticifer cells of *Hevea brasiliensis*[D]. Haikou: Hainan University: 1-159.[赵悦, 2011. 巴西橡胶树乳管细胞茉莉酸信号途径对橡胶生物合成调节的研究[D]. 海口: 海南大学: 1-159.]

ZHONG F, YANG D, HAO Y, et al., 2012. Regular patterns for proteome-wide distribution of protein abundance across species[J]. PLoS ONE, 7(3): e32423. doi: 10.1371/journal.pone.0032423. Epub 2012 Mar 9.